Некоторые пути решения этико-правовых проблем биомедицинских технологий: информирование населения и специалистов; широкое обсуждение этих проблем в обществе; создание соответствующих подзаконных актов и законодательства; регулирование работы соответствующих учреждений, использующих биомедицинские технологии, через систему этических комитетов обязательно с независимыми экспертами ряда специальностей: медиками, биологами, юристами, социологами, богословами, этиками, философами, организаторами здравоохранения; ежегодные отчеты таких учреждений перед этическими комитетами с конкретными протоколами применения методов биотехнологии по каждому пациенту.

Литература:

Джамбор В.В. Усовершенствование программы экстракорпорального оплодотворения человека с помощью применения метода витрификации. Автореф-т дисс. канд. биол. наук, МГУ им. М.В. Ломоносова, М., 2005,25.

Курило Л.Ф. Некоторые морально-этические проблемы репродукции человека. В кн. Биомедицинская этика. Ред. В.И.Покровский, М.: Медицина, 1997,151-171.

Курило Л.Ф., Шилейко Л.В. Этико-правовые аспекты репродуктивных технологий и технологии эмбриональных стволовых клеток человека. В кн. Биомедицинская этика. Ред. В.И.Покровский, Ю.М.Лопухин. М.: Медицина, 2002,98-114.

Юдин Б.Г Принципы биоэтики./ Биоэтика: принципы, правила, проблемы. М.: Эдиториалб 1998,. 215.

Edwards R., Brody S. Principles and Practice of Assisted Human Reproduction / Philadelphia, Saunders, 1995,112.

Eppig J. Oocyte maturation / In vitro Fert. and Assist. Reprod., Bologna, Monduzzi Editore, 1997,133-138.

Glander H.-X, Schaller X Hidden effects of cryopreservation on quality of human spermatozoa./ Cell a.Tissue Banking, 2000,1,133-142.

Isachenko V, Isachenko E., Kathkov I. Et al. Cryoprotectant-Free Cryopreservation of Human Spermatozoa by Vitrification and Freezing in Vapor: Effect on Motility, DNA Integrity, and Fertilization Ability. VBiol.Reprod.,2004,71,1167-1173.

Jaroudi K., HoUanders J., Sieck U. et al. Pregnancy after transfer of embryos which were generated from in vitro - matured oocytes / Hum. Reprod. 1997. Vol. 12. P. 857-859.

Fehilly C. et al. Creyopreservation of cleaving embryos and expanded blastocysts in the human: a comparative study./ Fertil. Steril. ,1985,44,638-644.

Kuwayama M., Kato O. Successful vitrification of human oocytes. /Fertil. Steril., 2000,74,349.

Kuwayama M. Vitrification of human oocytes and embryos. /In: IVF Update (in Japanese), ed. Suzuki S. / Medical View Co.,Tbkyo, Japan, 2001,230-234.

Kwang Y.,Cha M., Se Y. et al.. Pregnancies and deliveries after in vitro maturation culture followed by in vitro fertilization and embryo transfwer without stimulation in women with polycystic obarian syndrome./ Fertil. Steril., 2000,73,978-983.

Liu L., Nagy Z., Joris H. et al.. Analysis of 76 total fertilization failure cycles out 2732 intracytoplasmic sperm injection cycles./ Hum. Reprod.,1995,10, 2630-2634.

NakayamaT., Goto Y, Kanzaki H. et al.. Developmental potential of frozen-thawed human blastocysts./ X Assist. Reprod. Genet., 1995,12,239-243.

Report by the Working Party on the Protection of the Human Embryo and Fetus (CDBI-CO-GT3). The protection of the human embryo in vitro. Council of Europe^ Steering Committee on Bioethics (CDBI), Strasbourg, June 2003; 44P.

Report 3-rd Sympos. on Bioethics: Medically -assisted procreation and the protection of the Human Embryo, Council of Europe, CDBI, Strasbourg,1996.

В.Т. Какпаков

(Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва)

ЦЕНТР ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО (ИСКУССТВЕННОГО) ОСЕМЕНЕНИЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ (ЦИОМП)

Институт общей генетики им. Н.И, Вавилова РАН, Москва Криоконсервация семени производителей сельскохозяйственных и диких животных и искусственное осеменение самок давно нашли широкое применение. Медоносная пчела единственный объект, для которого эти методы находятся на стадии экспериментальной разработки.

Первые успешные опыты по сохранению спермы трутней медоносной пчелы в жидком азоте были проведены в нашей стране А.Н. Мельниченко и Ю.Л. Вавиловым в 1975 г. [1976]. В качестве разбавителя спермы они использовали разведенную в 10 раз гемолимфу тех же трутней. При этом криопротектор не добавляли. Д. Хербо [1977,1979], применив в качестве криопротектора 25% диметилсульфоксид (ДМСО), получил 8% расплода рабочих особей от маток, искусственно осеменных дефростированной (оттаянной) спермой. О. Кафтаноглу и Я. Пенг [1984] испытали 11 различных солевых растворов, содержащих криопротектор ДМСО. При соотно-

шении объема спермы и разбавителя 40:60 **они** получили 47% расплода рабочих особей от маток, инструментально осемененных спермой, хранившейся в жидком азоте **в** течение 359 суток.

Начиная с 1990 года в совместной работе Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН и Научно-исследовательского института пчеловодства РАСХН по криоконсервации спермы трутней и получения плодных маток, осеменных дефростированной спермой трутней были получены результаты, которые могут быть использованы при создании ЦИОМП.

1. В качестве разбавителя была использована готовая питательная среда С46 для культивирования клеток насекомых [В.Т.Какпаков,1989].

2. Сперму, отобранную от 100 трутней **14**-16-дневного возраста в ампулу фирмы «Nunc» разбавляли в 10 раз средой С46, содержащей 15% ЭТС и 10% ДМСО и эквилибрировали в течение 15-20 мин при +4° С.

3. Замораживание спермы проводили при режиме 1° С/мин на специально калиброванной установке с жидким азотом, после чего образцы переносили в сосуд Дьюара.

4. Оттаивание осуществляли в водяной бане при +32° С до получения жидкой фракции. Через 1 час после оттаивания сперму оценивали под микроскопом и использовали для инструментального осеменения пчелиных маток.

5. После оттаивания необходимо удалить криопротектор путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 3 мин и содержание спермиев в чистой среде С46. Таким способом проводят и концентрацию спермы до нужного объема. Данный факт очень важен так как особенности размножения пчелиной матки таковы, что при осеменении матка получает заведомо большее количество спермы, чем может принять и вместить семяприемник. За счет сокращения мускулатуры матки и естественного хода, сперма из парных яйцеводов в которые поступает после осеменения, переходит по тонкому семяпроводу в семяприемник, а большая часть спермы изливается в камеру жала. Тем, что мы вводим заведомо большое количество спермы, можно объяснить и столь высокий процент оплодотворения до 100%, так как видимо семяприемник достигает только спермин сохранившие активность, а неактивные и поврежденные спермин удаляются из органов матки. Еще одна важная особенность размножения пчелиных маток в том, что, спарившись в начале жизни с 7-10 трутнями, она хранит спермин в течение 2-5 лет в специальном органе — семяприемнике. Поэтому к дефростированной сперме предъявляются особые требования по переживаемости после оттаивания, так как процесс миграции спермиев из яйцеводов в семяприемник происходит в течение 24^48 часов при 28-32° С. Таким образом, сперма дважды должна из активного состояния перейти в неактивное, при замораживании-оттаивании и при инструментальном осеменении пчелиной матки и дальнейшем хранении ее в семяприемнике.

6. По предложенной нами технологии сперма трутней хранившейся в жидком азоте в течение 15 лет показали следующую динамику: после 6 лет хранения в жидком азоте сперма не только не теряла своей активности и оплодотворяющей способности, но и выявила тенденцию к улучшению данных показателей. Однако, начиная с 7 года сперма несколько снижала свою активность и переживаемость, а начиная с 9-го года хранения качество спермы улучшалось [О.В.Кабашова и др., 2004].

7. Пчелиные семьи, родоначальиками которых стали матки, инструментально осемененные дефростированной спермой хорошо зимовали, успешно развивались весной и нормально работали в течение 3 лет [В.Т.Какпаков и др., 1993, 1994]. По результатам исследований получен патент РФ на «Способ получения плодных маток медоносной пчелы» №2173045 от 10.09.01 г.[1999], позволяющий получить не менее 90% плодных маток при их инструментальном осеменении дефростированной спермой, которые обеспечивают наращивание полноценных пчелиных семей.

Таким образом, создание высокоэффективной криобологической технологии хранения спермы трудней и получения полноценной пчелосемьи от маток инструментально осемененных дефростированной спермой, длительно хранившейся в жидком азоте открывает новые подходы к решению следующих проблем:

1) стабильного сохранения генофонда медоносной пчелы различных географических рас и селекционных линий;

2) выведения генетически однородного потомства от трутней одной и той же отцовской семьи, что возможно только при условии длительного сохранения жизнеспособной спермы в глубокой заморозке в течение неограниченно долгого времени;

3) получении полноценной генетически охарактеризованной пчелосемьи в **лю-**

бое время года в любой климатической зоне нашей страны;

4) использование дефростированной спермы обеспечит ветеринарную и эпидемиологическую безопасность в пчеловодстве, связанную с переносом микро- и макропаразитов;

5) организации базы для промышленного пчеловодства путем создания пакетного пчеловодства сконструированного на основе выявления гибридной мощности (гетерозиса) в первом поколении медоносных пчел и т.д.

6) криогенетики гамет, соматических клеток и эмбрионов насекомых [Какпаков, Кабашова, 2004].

Литература

1. **Мельниченко А.Н., Вавилов Ю.Л Многолетнее хранение спермы трутней при заморозке в жидком азоте. Докл. Всесоюзн. Акад. Наук, 1976, №1, с. 25-26.2.**
2. **Harbo, J.R. Storage of honey bee spermatozoa in liquid nitrogen. J.Apic. Res. 1977, vol.18, p.57-63.3.**
3. **Hatbo, J.R. Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa after two years storage in liquid nitrogen. Ann. Entomol. Soc.Am. 1979, vol.70,p.890-891.4.**
4. **Kaftanoglu, O., and Peng, Y.S. Preservation of honey bee sprematozoa in liquid nitrogen. J. Apic. Res., 1984, vol.23, p. 157-163.5.**
5. **Какпаков В.Т. Получение и характеристика культур соматических клеток дрозофилы. Автореферат дисс. Доктора биол. наук// М., 1989, С.476.**
6. **Какпаков В.Т, Кабашова О.В., Бородачсв А.В., Какпакова Е.С. Криобанк спермы трутней медоносной пчелы/ЯТчеловодство. 1993, №8, с. 4-6.7**
7 **Какпаков В.Т.Дабашова О.В., Бородачсв А.В., Какпакова Е.С. Осеменение маток спермой после глубокой заморозки// Пчеловодство, 1994, №2, с. 24-25.8.**
8. **Какпаков В.Т. Кабашова О.В., Бородачев А.В., Бородачева В.Т Способ получения плодных маток медоносной пчелы (Приоритет от 25 октября 1999 года. Патент РФ №2173045 от 10.09.2001 г**
9. **Какпаков В.Т., Кабашова О.В. Криогенетика гамет, соматических клеток и эмбрионов насекомых. Материалы Международной конференции «Сохранение генетических ресурсов». Цитология, 2004, т.46, №9, с.798.**

Ю.А. Столповский, Г.Е. Сулимова

(Институт Общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, лаборатория сравнительной генетики животных.)

СОСТОЯНИЕ «КУЛЬТУРНОГО» БИОРАЗНООБРАЗИЯ (СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ)

На территории Российской Федерации разводится свыше 300 пород, популяций и стад, относящихся к более 25 видам сельскохозяйственных животных, млекопитающих, птиц, рыб, зверей и насекомых. В частности: кур - 53 породы, лошадей − 41, овец − 40, крупного рогатого скота − 32, свиней - 20, коз - 9 и т.д. После образования новых государств, экономических реформ, приведших к глобальному сокращению численности животных, а также в результате селекционной политики последних десятилетий российское животноводство потеряло, в зависимости от отрасли, от 20 до 50 процентов пород (например, такие потери мы наблюдаем среди пород крупного рогатого скота и овец). В критическом состоянии находятся от 20% до 32% от общего числа разводимых сегодня пород. Иными словами, около 50% местных пород основных сельскохозяйственных животных России либо уже исчезли, либо находятся на грани исчезновения.

Проанализировав численность животных, их качественный состав в тех или иных породах можно сделать неутешительный прогноз: если не принять конкретных и быстрых мер по сохранению отечественных пород, то в среднем 25% от ныне разводимых пород будут потеряны в ближайшее десятилетие. Речь идет о национальных агроресурсах, которые из года в год теряют главное, а именно свою «живительную силу» - породные ассоциации генов, генотипы, уникальный генофонд.

Российский генофонд местных пород уникален и весом даже на фоне мирового генофонда и насчитывает более 120 пород российского происхождения только среди семи основных видов сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, лошади, овцы, свиньи, козы, куры, гуси).

Напомним лишь о некоторых породах - жемчужинах российского генофонда, хорошо известных в мире своими уникальными свойствами. Якутский скот среди мирового генофонда крупного рогатого скота занимает самую северную нишу ареала *Bos taurus* и известен непревзойденными адаптационными способностями, ре-